

sense precedents. Per exemple, i sense voler ser exhaustius, els avenços en microfluídica i en videomicroscòpia ens permeten observar el comportament poblacional i individual dels microorganismes, i manipular-ne amb una extraordinària precisió i reproductibilitat les condicions ambientals (Son *et al.*, 2015). Noves eines en biologia molecular ens permeten anàlisis filogenètiques, metabòliques i fisiològiques, fins i tot, de cèl·lules individuals. I, finalment, el desenvolupament de sensors *in*

situ cada vegada més precisos i autònoms, i de millors algorismes, ha incrementat el volum i la qualitat de paràmetres ambientals que podem mesurar a escales molt properes a les dels mateixos microorganismes (Guadayol *et al.*, 2014). Són, doncs, temps enormement estimulants per als ecòlegs i biofísics que ens dediquem a estudiar els microorganismes, perquè tenim l’oportunitat de ser protagonistes d’aquest canvi de paradigma, i perquè tenim a l’abast eines que ens permeten elaborar ciència

basada en hipòtesis mecanicistes, cosa bastant rara en ecologia i que ens acosta al mètode hipoteticodeductiu clàssic de la física.

Agraïments

La recerca que hem presentat en aquest article ha estat finançada pel Leverhulme Trust a través del projecte «Form and function in a microbial world» atorgat a Stuart Humphries.

Bibliografia

BARTLETT, T. M. [*et al.*] (2017). «A periplasmic polymer curves *Vibrio cholerae* and promotes pathogenesis». *Cell*, 168: 172–185. e15.

BENNETT, R. R. [*et al.*] (2016). «Species-dependent hydrodynamics of flagellum-tethered bacteria in early biofilm development». *J. R. Soc. Interface* 13(115): 20150966.

BERG, H. C. (1993). «*Random walks in biology*». Princeton University Press.

BONNER, J. T. (2013). «*Randomness in evolution*». Princeton University Press.

CORTEZ, R. (2001). «The method of regularized stokes-lets». *SIAM J. Sci. Comput.*, 23: 1204–1225.

DUSENBERY, D. B. (1997). «Minimum size limit for useful locomotion by free-swimming microbes». *PNAS*, 94: 10949–10954.

DUSENBERY, D. B. (1998). «Fitness landscapes for effects of shape on chemotaxis and other behaviors of bacteria». *J. Bacteriol.*, 180: 5978–5983.

EL BAIDOURI, F. E. [*et al.*] (2016). «Independent evolution of shape and motility allows evolutionary flexibility in Firmicutes bacteria». *Nat. Ecol. Evol.*, 1: 0009.

GUADAYOL, Ò. [*et al.*] (2014). «Patterns in temporal variability of temperature, oxygen and pH along an environmental gradient in a coral reef». *PLoS ONE*, 9: e85213.

GUADAYOL, Ò. [*et al.*] (2017). «Cell morphology governs directional control in swimming bacteria». *Sci. Rep.*, 7: s41598-017-01565-y-017.

KARP-BOSS, L. [*et al.*] (1996). «Nutrient fluxes to planktonic osmotrophs in the presence of fluid motion». *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 34: 71–107.

MAGARIYAMA, Y.; KUDO, S. (2002). «A mathematical explanation of an increase in bacterial swimming speed with viscosity in linear-polymer solutions». *Biophys. J.*, 83: 733–739.

MITCHELL, J. G. [*et al.*] (1995). «Natural assemblages of marine bacteria exhibiting high-speed motility and large accelerations». *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 4436–4440.

PERSAT, A. [*et al.*] (2014). «The curved shape of *Caulobacter crescentus* enhances surface colonization in flow». *Nat. Commun.*, 5: 3824.

PURCELL, E. M. (1977). «Life at low Reynolds numbers». *Am. J. Phys.*, 45: 3–11.

SCHUECH, R. [*et al.*] (2019). «Motile curved bacteria are Pareto-optimal». *PNAS*, 116: 14440–14447.

SHOVAL, O. [*et al.*] (2012). «Evolutionary trade-offs, Pareto optimality, and the geometry of phenotype space». *Science*, 336: 1157–1160.

SHUM, H. [*et al.*] (2010). «Modelling bacterial behaviour close to a no-slip plane boundary: the influence of bacterial geometry». *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, 466: 1725–1748.

SMRIGA, S. [*et al.*] (2016). «Chemotaxis toward phytoplankton drives organic matter partitioning among marine bacteria». *PNAS*, 113: 1576–1581.

SON, K. [*et al.*] (2015). «Live from under the lens: exploring microbial motility with dynamic imaging and microfluidics». *Nat. Rev. Microbiol.*, 13: 761–775.

STOCKER, R. (2012). «Marine microbes see a sea of gradients». *Science*, 338(6107): 628–633.

SUTTLE, C. A. (2005). «Viruses in the sea». *Nature*, 437(7057): 356–61.

VILLAREAL, T. A. [*et al.*] (2014). «Upward nitrate transport by phytoplankton in oceanic waters: balancing nutrient budgets in oligotrophic seas». *PeerJ*, 2: e302.

YOUNG, K. D. (2006). «The selective value of bacterial shape». *Microbiol. Mol. Biol. R.*, 70: 660–703.

L’activitat de bacteris heterotròfics marins en un camp turbulent

Francesc Peters¹, Helena Torné¹, Òscar Guadayol²

¹ Institut de Ciències del Mar (CSIC).

² Physical Ecology Lab, School of Life Sciences, University of Lincoln, Regne Unit.

Correspondència: Francesc Peters. Institut de Ciències del Mar (CSIC). Pg. Marítim de la Barceloneta, 37-49. 08003 Barcelona, Catalunya. Adreça electrònica: cesc@icm.csic.es.

Resum

Els bacteris heterotròfics marins necessiten substàncies dissoltes per metabolitzar i créixer. El flux de soluts cap als microorganismes per difusió molecular és molt lent, però la turbulència, que és un fenomen ubic en el mar, pot fer augmentar aquest flux. Aquest efecte depèn de la difusivitat dels soluts i de la mida dels organismes. Així, el fet que els bacteris requereixin matèria orgànica dissolta que pot ser d’elevat pes molecular, i per tant baixa difusivitat, pot magnificar l’efecte de la turbulència. En aquest article fem un breu repàs dels fonaments teòrics dels efectes de la turbulència en els microorganismes osmòtrofs, i presentem els resultats d’uns experiments en què vam exposar poblacions naturals de bacteris marins a fonts de carboni de diferent pes molecular i a diferents nivells de turbulència. Els resultats confirmen les prediccions teòriques d’un major efecte de la turbulència en presència de substrat d’elevat pes molecular, tot i que els valors absoluts dels efectes observats s’ajusten pobrament al nivell dels efectes esperats. Els agregats de bacteris, que hidrodinàmicament es poden considerar una partícula, expliquen una part de la discrepància però no tota.

Paraules clau: bacteris, turbulència, difusivitat, producció, agregats.

Introducció

La turbulència en el mar. Els bacteris heterotròfics (a partir d’ara, bacteris) són actors crucials en els cicles biogeoquímics marins i globals per la seva degradació de matèria orgànica, reciclatge de nutrients i contribució al CO₂ atmosfèric amb la seva respiració (Jiao *et al.*, 2010). Els bacteris marins viuen en un medi on el flux és turbulent. La turbulència és l’estat natural del flux de l’aigua en entorns naturals i, especialment, en el mar. El flux turbulent es caracteritza per moviments estocàstics de l’aigua en totes tres dimensions de l’espai. A més, és dissipatiu i, per tant, necessita la contínua entrada d’energia cinètica, generalment a escales grans, per mantenir-se (Tennekes i Lumley, 1972). Si no és així, la viscositat del fluid acaba per esmorteir-ne el moviment. Naturalment, la turbulència a l’oceà augmenta significativament amb increments en l’entrada d’energia, per exemple durant les tempestes, i a prop de la superfície amb l’efecte del vent.

Heterotrophic bacteria activity in a turbulent field

Abstract

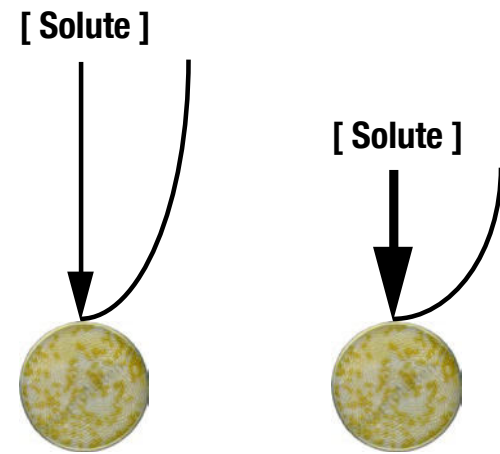
Marine heterotrophic bacteria need dissolved substances for metabolism and growth. The flux of solutes towards microorganisms by molecular diffusion is quite slow. Turbulence, ubiquitous in the ocean, may increase this flux. This effect depends on the diffusivity of the solute and the size of organisms. Bacteria require dissolved organic matter that may be of high molecular weight, that is, low diffusivity, and thus the enhancement owing to turbulence may be larger. After a brief overview of the effects of turbulence on osmotrophic microorganisms, we show the results of bacterial growth experiments under turbulence conditions and with carbon sources of different molecular weight. We see a general trend of larger effects of turbulence with the high molecular weight substrate, albeit the absolute values of the observed effects adjust poorly to expected effects. The formation of aggregates that hydrodynamically may be considered as a particle explain part of this discrepancy but not all.

Keywords: bacteria, turbulence, diffusivity, production, aggregates.

rellevant per als osmòtrofs (aquells que necessiten captar substàncies dissoltes del medi per viure) pot ser no tant la de Kolmogorov com la de Batchelor, més petita, que caracteritza els gradients químics resultants de la turbulència. De fet, estudis teòrics indiquen que la turbulència pot incrementar l’heterogeneïtat espacial a escales de l’ordre de centenars de micròmetres (Taylor i Stocker, 2012).

L’estudi experimental dels efectes de la turbulència sobre els organismes osmotròfics, tant marins com d’aigua dolça, s’ha centrat sobretot en el fitoplàncton. En canvi, l’experimentació amb bacteris ha estat més anecdòtica i, en molts casos, poc rigorosa amb la generació i quantificació de la turbulència. Com que en el camp de dinàmica de fluids les diferències entre l’aigua de mar i l’aigua dolça són mínimes, barrejarem exemples d’estudis de diferents ambients. Logan i Kirchman (1991) no van trobar cap augment en taxes d’absorció d’una substància de baix pes molecular per

bacteris a nivells naturals de turbulència, mentre que Confer i Logan (1991) van trobar que el moviment del fluid feia augmentar les taxes d'absorció de substrats d'alt pes molecular per part dels bacteris. Moeseneder i Herndl (1995) van mesurar la producció bacteriana d'una comunitat aquàtica natural en condicions turbulentes dins de petits vials i van observar-hi efectes negatius, excepte quan la mostra havia estat preexposada a turbulència. Si es feia la prova només amb bacteris, sense la resta de la comunitat, llavors no hi havia efecte. Tant Confer i Logan (1991) com Moeseneder i Herndl (1995) van fer servir nivells de turbulència 3 o 4 ordres de magnitud més alts que els nivells que es poden trobar a l'oceà durant una tempesta. D'altra banda, Peters *et al.*, (1998), utilitzant nivells de turbulència realistes, van trobar efectes positius sobre el creixement de bacteris només per efecte indirecte sobre les taxes de depredació, ja que en turbulència els depredadors microbians preferien eucariotes fototròfics a bacteris.



↑ Figura 1. Representació gràfica del gradient de la concentració d'un solut des del camp llunyà fins a la superfície d'un microorganisme. Si el camp llunyà és més a prop del microorganisme (dreta), el gradient del solut serà més gran i, per tant, també el flux cap a l'organisme.

El nombre de Sherwood. Els bacteris són organismes osmòtrofs. Els organismes osmòtrofs són aquells que necessiten substàncies dissoltes en l'aigua per al seu metabolisme i creixement. Són osmòtrofs els diferents microorganismes autotròfics que requereixen fòsfor, nitrogen, silici o microelements de l'aigua, i també els bacteris heterotròfics que necessiten fòsfor, nitrogen, microelements i carboni orgànic. A l'oceà, i en general en tots els sistemes aquàtics naturals, normalment aquests elements es troben en concentracions baixes o no saturants. Com que la potencialitat de captació d'aquests elements per part dels microorganismes és molt gran, es crea una zona teòrica de concentració nul·la just a la paret cel·lular a l'espera de l'arribada per difusió de noves molècules des del que anomenem camp llunyà (Figura 1). Aquesta arribada en aigua quieta ve donada per la difusió molecular del solut en el medi, que és un procés relativament lent. Qualsevol moviment relatiu de cèl·lules o microorganismes respecte del medi que els envolta fa que el camp llunyà de concentració del solut s'apropi una mica més. Per tant, el gradient del solut fins a la paret cel·lular augmenta i el flux del solut incrementa.

Aquest efecte es pot quantificar amb el nombre de Sherwood (Sh), que és la proporció entre la taxa total de transport d'un solut sota unes condicions hidrodinàmiques determinades i la taxa de transport deguda a la difusió molecular (Karp-Boss *et al.*, 1996). Sh depèn del nombre de Péclet (Pe), un altre nombre adimensional que relaciona la velocitat d'advecció d'un flux i la velocitat per difusió.

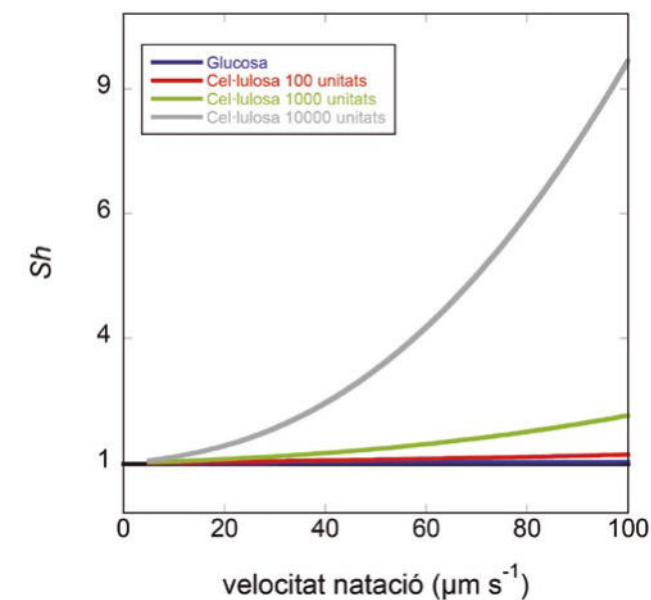
Sh i la natació. Una manera d'incrementar el moviment relatiu entre organisme i medi és la natació. Molts bacteris marins tenen capacitat natatòria. En aquest cas, Pe es calcula segons l'Eq. 1 i Sh , segons l'Eq. 2:

$$(Eq. 1) \quad Pe = \frac{Er^2}{D}$$

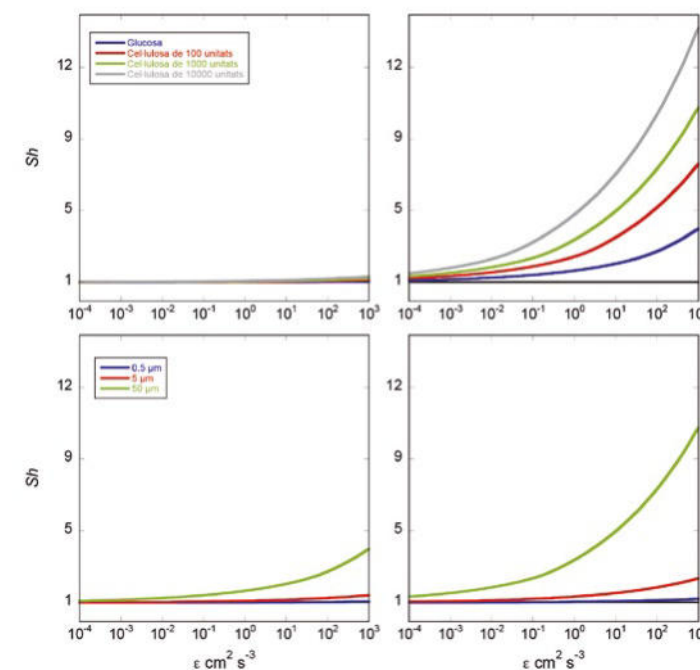
(Eq. 2)

$$Sh = 1 + 0.5Pe + 0.5Pe^2 \ln(Pe) + O(Pe^2)$$

on U és la velocitat de natació de l'organisme, r n'és el radi i D és la difusivitat del solut que ens interessa, mentre que O vol dir de l'ordre de. Es pot veure en la (Figura 2) que el Sh és molt baix per a una substància de baix pes molecular com la glucosa, encara que els bacteris nedin a $100 \mu m s^{-1}$ ($Sh = 1,02$, és a dir, un increment de 2% en el flux respecte a difusió molecular). Amb soluts d'alt pes molecular, com poden ser cadenes llargues de cel·lulosa, fins i tot a unes velocitats de natació més realistes com $30 \mu m s^{-1}$ es poden aconseguir Sh més grans d'1,50. Els avantatges de la natació, però, semblen estar sobretot relacionats amb la quimiotaxi i la capacitat d'anar a buscar zones amb alt contingut de soluts. Aquest camp d'investigació és força actiu avui en dia gràcies als avenços en microfluídica i visualització (Son *et al.*, 2015). També en aquest mateix número (Guadayol *et al.*) ja es tracta el tema de la natació dels bacteris i la relació amb la morfologia.



↑ Figura 2. Comportament del Sh amb la velocitat de natació d'un bacteri de $0,5 \mu m$ de diàmetre. Les línies corresponen a diferents compostos de creixent pes molecular i, per tant, de decreixent difusivitat. La línia horitzontal negra marca $Sh = 1$ (difusió molecular només).



↑ Figura 3. Comportament del Sh amb la turbulència per a diferents compostos de creixent pes molecular i, per tant, de decreixent difusivitat (dalt) per a un microorganisme de $0,5 \mu m$ de diàmetre (dalt-esquerra) i $50 \mu m$ de diàmetre (dalt-dreta), i per a diferents mides de microorganismes (baix) per a glucosa (baix-esquerra) i per a cel·lulosa de 1.000 monòmers (baix-dreta). La línia horitzontal negra marca $Sh = 1$ (difusió molecular només).

Sh i la turbulència. La turbulència, mesurada com la taxa de dissipació d'energia cinètica turbulenta (ϵ), i la taxa de cisallament (E) que se'n deriva també poden incrementar la velocitat relativa entre organisme i fluid. En aquest cas tenim que el Pe es calcula segons:

$$(Eq. 3) \quad Pe = \frac{Ur}{D}$$

E es pot obtenir segons l'Eq. 4:

$$(Eq. 4) \quad E = \sqrt{\frac{\epsilon}{v}}$$

on v és la viscositat cinemàtica, que depèn del fluid i la seva temperatura i salinitat i es pot entendre com la difusivitat del moviment del fluid. Una v normal per l'oceà volta els $0,01 cm^2 s^{-1}$.

En aquest cas tenim diferents equacions per calcular Sh segons el nombre de Pe . Així, sempre segons Karp-Boss *et al.* (1996) tenim les equacions següents:

(Eq. 5) Si $Pe \ll 1$

$$Sh = 1 + 0.29\sqrt{Pe}.$$

(Eq. 6) Si $Pe \gg 100$

$$Sh = 0.55\sqrt[3]{Pe}.$$

I per a valors de $0,01 < Pe < 100$ es poden fer servir les aproximacions empíriques:

$$(Eq. 7) \quad Sh = 1.014 + 0.15\sqrt{Pe}$$

i

$$(Eq. 8) \quad Sh = 0.955 + 0.344\sqrt[3]{Pe}.$$

Per a un bacteri marí d'uns $0,5 \mu m$ de diàmetre, l'augment del nombre Sh és insignificant encara que el solut sigui d'alt pes molecular (Figura 3 dalt-esquerra), superant un llindar del 5% només per a nivells de turbulència superiors a $2 \cdot 10^{-1} cm^2 s^{-3}$. En canvi, si parlem d'un microorganisme de $50 \mu m$ de diàmetre (Figura 3 dalt-dreta), a una turbulència mitjana per la capa de barreja superficial de l'oceà de $10^{-3} cm^2 s^{-3}$, tenim uns increments del 15% per glucosa, una molècula relativament petita, i del 75% per a una molècula de cel·lulosa composta d'uns 10.000 monòmers. L'efecte de la

mida de la partícula es pot veure també a la Figura 3 (baix).

Agitem els cultius bacterians. Si entrem en un laboratori de bacteriologia és molt probable que hi vegem cultius bacterians creixent en medi líquid en flascons sotmesos a alguna mena d'agitació, sobretot en agitadors orbitals. Si es pregunta per què s'agita, la resposta més comuna és que és per airejar el medi per tal que l'oxigen necessari per al creixement de bacteris aeròbics no esdevingui limitant. La multitud de respostes també inclou que els diferents nutrients tinguin una distribució homogènia en el medi, que els bacteris no formin biofilms i d'altres, de dubtosa generalitat.

L'oxigen, com altres gasos, equilibra la seva concentració en aigua segons la seva solubilitat i la seva pressió parcial en aire. Si hi ha processos de consum en l'aigua, com ara respiració dels bacteris aerobis, la concentració disminuirà quan la taxa de consum sigui més elevada que no pas la difusió molecular a través de la interfície aigua-aire i dins l'aigua. L'agitació augmenta la superfície d'intercanvi aigua-aire i, a la vegada, introdueix un flux turbulent en l'aigua que augmenta molt la difusió de l'oxigen en el medi líquid, tendint a l'homogeneïtzació de la concentració.

Bergstedt *et al.* (2004) van fer un experiment interessant. Van fer créixer una soca d'*Escherichia coli* amb un medi ric de glucosa (150 mg l⁻¹) i àcid glutàmic (150 mg l⁻¹). Van sotmetre els cultius líquids a agitació, amb la particularitat que una capa d'oli cobria el medi líquid i prevenia l'entrada d'oxigen de l'aire. En els cultius, l'oxigen dissolt decreixia molt més ràpidament pel consum bacterià quan s'agitava que en aigua quieta, plasman la importància de l'augment de la difusió turbulenta dins l'aigua, ja que no hi havia intercanvi amb l'aire. Els nivells de turbulència eren alts, de fins a 45 cm² s⁻³, i els cultius amb agitació augmentaven 3,55 vegades el seu metabolisme. Els substrats tenien un pes molecular de ca. 180 i una difusivitat de ca. 6·10⁻⁶ cm² s⁻¹. Considerem una mida dels bacteris relativament gran d'1 µm de diàmetre. Si es fan els càlculs amb les Eq. 3-8, es veu que el *Sh* és 1,05, un flux del solut cap als bacteris de només un 5% més alt respecte de la difusió molecular. La natació dels bacteris tampoc no pot explicar aquests resultats. Suposant que els bacteris nedessin a una velocitat de 30 µm s⁻¹, el *Sh* només seria de menys d'1,01 i, en qualsevol cas, els

bacteris poden nedar tant en agitació com en aigua quieta i, per tant, la natació no hauria de representar cap diferència entre ambdues condicions. Per tant, ens trobem amb uns resultats inexplicables.

El que sí que s'ha observat sovint en experiments amb cultius i organismes marins és la formació de filaments i agregats (Schuster i Herndl, 1995, Malits *et al.*, 2004). A Malits *et al.* (2004) els agregats van arribar a uns 50 µm de diàmetre. Aquests agregats hidrodinàmicament poden actuar com una partícula única, però ara de dimensions molt més grans que no pas les cèl·lules individuals que el componen i, així, poden prendre molt avantatge de l'Eq. 3, on el nombre de *Pe* s'escala amb el quadrat del radi de la partícula. Això augmenta significativament el *Sh* i, per tant, el flux de soluts cap a les cèl·lules. Si fem els càlculs per l'experiment de Bergstedt *et al.* (2004) considerant partícules de 50 µm, llavors tenim un *Sh* de 4,01, molt proper al 3,55 que s'observa experimentalment. Per tant, segurament els bacteris, activament o passivament, formen agregats sota determinades condicions hidrodinàmiques, cosa que els pot afavorir molt en la captació de soluts.

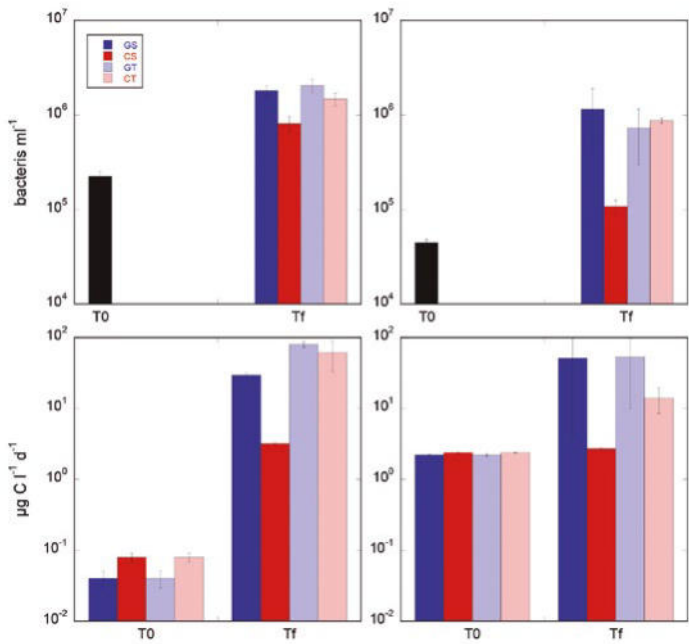
Per tal de validar la hipòtesi que els bacteris poden beneficiar-se directament de la turbulència, ja sigui a l'hora d'adquirir substàncies d'alt pes molecular o bé incrementant la seva mida efectiva, vam dur a terme experiments amb comunitats naturals de bacteris marins. Vam realitzar incubacions de bacteris marins, afegint-hi o bé glucosa o bé cel·lulosa com a font de carboni. Les incubacions les vam fer tant en aigua quieta com en nivells de turbulència de 5·10⁻³ cm² s⁻³ o 5·10⁻² cm² s⁻³. En aquestes condicions l'efecte teòric de la turbulència és de 0,24% i 0,43% per a la glucosa i d'entre 0,97% i 1,71% per a una cel·lulosa de 1.000 monòmers.

Material i mètodes

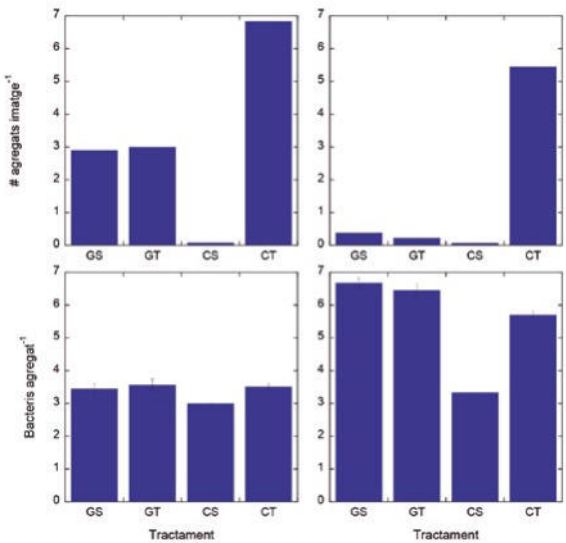
Es va agafar aigua subsuperficial d'una zona costanera del litoral mediterrani (41°22'23"N, 2°12'58"E) en contenidors de 25 l de polietilè netejats amb àcid clorhídric 10%, aigua ultrapura i aigua de mostra. En menys d'1 h des del mostreig, al laboratori l'aigua es va filtrar per 0,8 µm amb filtres de policarbonat. L'aigua experimental consistia en aigua de mar artificial (aigua ultrapura amb NaCl afegit a una concentració final del 35‰), a la qual s'afegia l'inòcul de l'aigua amb bacteris a raó de 10% (v/v). També s'hi va afegir 0,038 mg l⁻¹ de

Na₂HPO₄ i 0,238 mg l⁻¹ de NH₄Cl. Els tractaments eren la font de carboni (G: glucosa a 0,5 mg l⁻¹; C: cel·lulosa) i si es va sotmetre a turbulència (T) o no (S). Cada combinació constava de contenidors diferents com a rèpliques. En el primer experiment (Exp#1) vam utilitzar un nivell alt de turbulència (5·10⁻² cm² s⁻³) i la concentració de cel·lulosa era d'1,75 mg l⁻¹. En el segon (Exp#2) el nivell de turbulència era més baix (5·10⁻³ cm² s⁻³) i la concentració de cel·lulosa era de 0,5 mg l⁻¹. El volum dels contenidors cilíndrics era de 2 l. El nivell baix correspon a una turbulència al voltant de la mitjana que es troba en la capa de barreja superficial del mar, mentre que el valor alt correspon a una tempesta en aquesta capa.

La turbulència es va generar mitjançant un sistema de reixeta vertical oscil·lant descrit anteriorment a Guadayol *et al.* (2009) en una càmera experimental a temperatura controlada i a les fosques. Les incubacions van durar uns 4 dies. A l'inici i al final de les incubacions es va mirar la producció bacteriana amb el mètode de la incorporació de leucina radioactiva (Kirchman *et al.*, 1985). També es van agafar mostres per enumeració de bacteris fent servir la tècnica de Porter i Feig (1980) i mitjançant un microscopi d'epifluorescència Olympus BX 61. De les mostres de microscòpia es van obtenir imatges amb una càmera Olympus DP72 a partir de les quals vam comptar agregats bacterians i el nombre de bacteris per agregat.



↑ Figura 4. Abundància (dalt) i producció (baix) bacterianes en l'Exp#1 (esquerra) i l'Exp#2 (dreta). S'hi representen la concentració inicial (T0) i les concentracions finals (Tf) dels diferents tractaments (GS: glucosa, quiet; GT: glucosa, turbulència; CS: cel·lulosa, quiet; CT: cel·lulosa, turbulència). Les barres d'error són 1 error estàndard. En el cas de les d'abundància només se'n va fer una mostra única inicial.



↑ Figura 5. Nombre mitjà d'agregats per imatge (filera superior) i nombre mitjà de bacteris per agregat (filera inferior) per a cadascun dels tractaments al final de l'Exp#1 (esquerra) i l'Exp#2 (dreta).

Resultats

La concentració de bacteris augmenta en tots els tractaments i experiments (Figura 4). En el cas dels tractaments S la concentració final és una mica més gran en els tractaments amb glucosa que amb cel·lulosa, segurament perquè la glucosa és un compost fàcilment degradable, mentre que en el cas de la cel·lulosa els bacteris han de trencar les cadenes, generalment amb ectoenzims, abans de poder catabolitzar els monòmers. En canvi, els tractaments amb turbulència afavoreixen més el creixement dels bacteris sobre cel·lulosa que sobre glucosa, en relació amb els tractaments amb aigua quieta.

La producció bacteriana reproduceix el mateix patró que la concentració (Figura 4), tot i que l'efecte de la turbulència en el tractament amb cel·lulosa hi és més pronunciat. En tots els casos es formen agregats (Figura 5), però és justament en el tractament CT on el nombre d'agregats és significativament més gran. El nombre de cèl·lules per agregat també és més gran amb turbulència en el cas de la cel·lulosa, sobretot en l'Exp#2.

Els resultats dels efectes es troben resumits a la Taula 1. Es pot observar que els efectes del tractament T en relació amb el tractament S sempre són més grans pel cas de la cel·lulosa que pel de la glucosa, encara que no sempre els efectes s'escalen amb la turbulència aplicada. Si es fan servir aquestes dades, després d'una normalització per transformació logarítmica, per a una anàlisi estadística de model lineal general fent servir el nivell de turbulència com a variable contínua i el substrat com a variable categòrica, s'observa que només el substrat resulta significatiu ($p < 0,05$), essent l'efecte més gran per a la cel·lulosa. Amb totes les dades surt que l'efecte de la turbulència respecte de l'aigua quieta és, de mitjana, 8,13 per a la cel·lulosa i d'1,03 per a la glucosa.

▼ Taula 1. Relació entre el resultat del tractament amb turbulència dividit pel resultat del tractament amb aigua quieta que podria relacionar-se amb els *Sh* teòrics. Les dades estan sumariatzades pels diferents paràmetres mesurats i detallats pel tractament del solut i el nivell de turbulència usat.

Paràmetre		Solut	Nivell de turbulència (cm² s⁻³)	
			(Exp#2)	(Exp#1)
			5·10 ⁻³	5·10 ⁻²
Abundància	Glucosa	0,63	1,14	
	Cel·lulosa	8,09	1,81	
Producció	Glucosa	1,05	2,72	
	Cel·lulosa	5,14	19,11	
Nombre agregats	Glucosa	0,58	1,03	
	Cel·lulosa	77,86	85,38	
Mida agregats	Glucosa	0,97	1,03	
	Cel·lulosa	1,71	1,17	

Discussió

Els resultats, a grans trets, conformen amb la hipòtesi inicial que la turbulència pot afectar el creixement dels bacteris de manera diferencial depenent de la difusivitat del solut que es faci servir. El fet que els resultats no s’escalin ben bé amb el nivell de turbulència segurament és degut al fet que els dos experiments no s’han fet en les mateixes condicions inicials de població bacteriana, nutrients disponibles, etc. Segurament que si haguéssim fet servir nivells molt més alts de turbulència, els efectes s’haurien vist més clars. També és obvi que la diferència mitjana dels efectes entre turbulència i aigua quieta de 8,13 no es pot explicar simplement per la diferència de difusivitat de solut i s’ha de deure a l’increment del nombre d’agregats i la mida d’aquests agregats. Per tant, la resposta final de la comunitat bacteriana al pes molecular del substrat és complexa i depèn també d’altres canvis fisiològics i morfològics que passen en aquestes condicions, la relació causa-efecte de les quals no és fàcil de destriar. Potser el paràmetre que més directament s’apropa al significat del nombre de Sherwood seria la producció bacteriana, que ha de dependre directament de la incorporació de soluts. En aquest cas veiem (Taula 1) que els valors sí que augmenten amb el nivell de turbulència. Els valors per la glucosa al nivell baix de turbulència és d’1,0455, mentre que el valor teòric era d’1,0024. Per aconseguir el valor experimental amb els càlculs de *Sh*, hem de tenir una mida de partícula d’uns 9 µm.

Aquesta mida sembla més gran que els agregats que veiem que es formen, però queda dins d’un ordre factible. En el cas de la glucosa al nivell alt de turbulència, necessitariem mides de partícula de 360 µm, que no hem vist en cap cas. Per tant, hi ha d’haver altres factors, conjuntament amb la turbulència, que estiguin afavorint la producció en aquestes condicions. En el cas de la cel·lulosa ens trobem que també podem jugar amb la incògnita de la difusivitat, ja que la llargada de les cadenes no és constant. Ajustant la mida de 9 µm que hem obtingut per a la glucosa, necessitariem una difusivitat de la cel·lulosa d’1,75·10⁻¹⁰ cm² s⁻¹. Això implicaria cadenes de cel·lulosa d’1,84·10¹⁰ monòmers, molt més grans que les cadenes d’uns 100.000 monòmers que podrien ser possibles. Per tant, altra vegada, hi ha mecanismes, segurament biològics, que d’una manera o altra interaccionen amb els processos físics teòrics per produir aquests efectes de la turbulència sobre la captació de soluts i el creixement d’organismes tan petits com els bacteris, tenint en compte, això sí, que la difusivitat del solut hi té un efecte molt important.

També s’ha de tenir en compte que la majoria de càlculs teòrics es basen en assumpcions i aproximacions i, per tant, es fa difícil de saber-ne la semblança de la realitat. Per posar alguns exemples, l’aproximació de considerar partícules esfèriques, o no considerar desviacions de l’aigua respecte a un fluid newtonià, o la impossibilitat de tenir solucions analítiques per a *Sh* en fluxos complexos o en situacions

combinades de flux i natació d’organismes, generen una gran incertesa teòrica. De fet, els càlculs dels nombres de Sherwood que hem fet servir s’apliquen a un cisallament constant, que no és necessàriament cert en una turbulència isotròpica desenvolupada com la que hem simulat en els experiments. Tot plegat sense tenir en compte que la comprensió de la turbulència a les escales de dissipació segueix essent una de les fronteres del coneixement en física i, per tant, no acaba d’estar resolta ni contrastada. Tenint en compte aquestes incerteses i la complexitat fisiològica i dels camps biogeoquímics que els organismes es troben, és realment sorprenent que els resultats experimentals i els teòrics presentin, a grans trets, els mateixos patrons, malgrat no estar escalats en els seus valors absoluts. Per posar un exemple de tot el que hi ha encara per treballar en aquest camp, es pot mencionar la barreja que poden generar petits organismes a l’aigua amb la seva natació individual o conjunta (Dabiri, 2010), un aspecte que fins fa ben poc era descartat des del punt de vista teòric.

L’afavoriment del creixement dels bacteris per la turbulència és, doncs, molt rellevant en sistemes artificials, com bioreactors, plantes de tractament d’aigües, etc., que poden presentar alts nivells de turbulència i de compostos orgànics d’alt pes molecular. En el mar hauria de ser rellevant en condicions on els compostos d’alt pes molecular fossin majoritaris, com pot ser just després de creixements algals massius o a prop d’emissaris submarins o en situacions de turbulència molt elevada. Però, en qualsevol cas, petits increments del metabolisme i creixement bacterià deguts a la turbulència poden tenir grans efectes en els cicles biogeoquímics globals, especialment del carboni, ja que els bacteris en són actors principals.

Agraïments

Aquest treball ha estat possible gràcies als projectes de recerca ADEPT (CTM2011-23458) i ANIMA (CTM2015-65720-R) del Ministeri d’Economia i Competitivitat del Govern espanyol. Agraïm a I. Marín, C. Marrasé i M. M. Sala la participació en els experiments. A la memòria de Jorge Wagensberg, que ens ha deixat frases tan brillants com la del títol d’un dels seus llibres: *Si la natura és la resposta, quina era la pregunta?*

Bibliografia

BERGSTEDT, M. S. [et al.] (2004) «Effects of small scale fluid motion on bacterial growth and respiration». *Freshwater Biol.* 49: 28–40.

CONFER, D. R.; LOGAN, B.E. (1991). «Increased bacterial uptake of macromolecular substrates with fluid shear». *Appl Environ Microbiol.*, 57: 3093–3100.

DABIRI, J. O. (2010). «Role of vertical migration in biogenic ocean mixing». *Geophys. Res. Letters*, 37: L11602.

GUADAYOL, Ò. [et al.] (2009). «Evaluation of oscillating grids and orbital shakers as means to generate isotropic and homogeneous small-scale turbulence in laboratory enclosures commonly used in plankton studies». *Limnol. Oceanogr. Meth.*, 7: 287–303.

JIAO, N. [et al.] (2010). «Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: longterm carbon storage in the global ocean». *Nature Rev. Microbiol.*, 8: 593–599.

KARP-BOSS, L. [et al.] (1996). «Nutrients fluxes to planktonic osmotrophs in the presence of fluid motion». *Oceanogr. mar. Biol. Annu. Rev.*, 34: 71–107.

KIRCHMAN, D. L. [et al.] (1985). «Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems». *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 599–607.

LOGAN, B. E.; KIRCHMAN, D. L. (1991). «Uptake of dissolved organics by marine bacteria as a function of fluid motion». *Mar Biol.*, 111: 175–181.

MALITS, A. [et al.] (2004). «Effects of small-scale turbulence on bacteria: A matter of size». *Microb. Ecol.*, 48: 287–299.

MOESENEDER, M. M.; HERNDL, G. J. (1995). «Influence of turbulence on bacterial production in the sea». *Limnol. Oceanogr.*, 40: 1466–1473.

PETERS, F. [et al.] (1998). «Effects of turbulence on bacterial growth mediated through food web interactions». *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 172: 293–303.

PETERS, F.; MARRASÉ, C. (2000). «Effects of turbulence on plankton: an overview of experimental evidence and some theoretical considerations». *Mar Ecol Prog Ser.*, 205: 291–306.

PORTER, K. G.; FEIG, Y. S. (1980). «The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora». *Limnol. Oceanogr.*, 25: 943–948.

SHUSTER, S.; HERNDL, G. J. (1995). «Formation and significance of transparent exopolymeric particles in the northern Adriatic Sea». *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 124: 227–236.

SON, K. [et al.] (2015). «Live from under the lens: exploring microbial motility with dynamic imaging and microfluidics». *Nature Rev. Microbiol.*, 13: 761–775.

TAYOR, J. R.; STOCKER, R. (2012). «Trade-off of chemotactic foraging in turbulent water». *Science*, 338: 675–679.

TENNEKES, H.; LUMLEY, J. L. (1972). *A first course in turbulence*. Cambridge: MIT Press.